



(51) 国際特許分類6 G06F 17/30	A1	(11) 国際公開番号 WO99/62004 (43) 国際公開日 1999年12月2日 (02.12.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/02302 (22) 国際出願日 1998年5月26日 (26.05.98) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 医薬分子設計研究所(INSTITUTE OF MEDICINAL MOLECULAR DESIGN, INC.)(JP/JP) 〒113-0033 東京都文京区本郷5丁目24番5号 角川本郷ビル4F Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 板井昭子(ITAI, Akiko)(JP/JP) 板井玲子(ITAI, Reiko)(JP/JP) 〒113-0033 東京都文京区本郷5-16-6 Tokyo, (JP) 富岡伸夫(TOMIOKA, Nobuo)(JP/JP) 〒113-0033 東京都文京区本郷5-21-12 マンションユキ302号 Tokyo, (JP) 今村正純(IMAMURA, Masazumi)(JP/JP) 〒267-0066 千葉県千葉市緑区あすみが丘4丁目39番地 ガーデンコート社の街五番館301号 Chiba, (JP)		(74) 代理人 弁理士 今村正純, 外(IMAMURA, Masazumi et al.) 〒104-0031 東京都中央区京橋1丁目5番5号 KRFビル5階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, 欧州 特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: METHOD OF ESTIMATING PROTEIN FUNCTIONS (54)発明の名称 蛋白質の機能推定法 <pre>DEFR-EC 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 N1EL1AALAVRVIGKHAMWVLPADLAWKKTLOKPYINGRRTWESTGKPLGKNI1LASQGTSDRVWYKVDL1AACGVY1HW1GGVY 1122211 11122112211111 11111221221212112 110 120 130 140 150 160 EGFLPAGLTL1SHDAEVEGDTHTFD1EPDWEVSEFEPADAGHNSYCFK1L2AR 1111111 VRLP 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 1VQDTTQARVTVFQVSLNGVYFCGGL1RSQWVYVLA1NCTK1G1QV1LGEW1WVCEKZQ11ARFSLVETW1LWMD1KL1L2AASLW1K1V 11111 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200 A11SLP7SCA1Q1C11SGWHTK1SGT1Y1V1L1L1AP1L1ED1E1CK1A1Y1G1T1M1W1C1A1Y1L1GG1E1D1S1C1D1G1G1V1V1C1K1L1Q1V1W1G1D1C1K1 111111111 111111 111111 111222211221113 11222222221 210 220 WEPQVTVK1V1W1W1K1Q1T1A1N 112221 RNAS 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 KETAAR1P1E1D1H1D1B1E1R1A1S1S1E1N1Y1C1M1H1K1L1T1E1D1K1P1V1T1F1V1E1L1A1D1V1A1V1C1O1N1V1A1K1G1O1T1N1C1Y1S1T1H1S11T1D1E1T1G1S1K1Y1W1C1A1Y1T 11111111221 2122211 111121 110 120 130 QANX111V1A1C1G1W1F1V1Y1T1D1A1V 11111111 111222211 N1GL 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 V1S1E1G1E1N1V1L1W1H1V1A1P1V1A1G1G1D11L1L1P1E1S1V1P1E1R1F1R1E1L1E1A1R1K1A1E1L1E1N1D1V1T1A1L1G1A1L1K1R1O1R1E1A1E1P1L1A1Q1A1T1E1R1P 111111 111221221211 1112212221221111 111111121 11111 110 120 130 140 150 11Y1L1F1E1R1A111W1L1A1R1P1G1D1G1A1G1A1V1K1A1L1P1A1D1A1A1Y1K1E1L1O1Y1G 11222121111 1112211111111</pre>		
(57) Abstract A database containing information on the amino acid sequences of proteins of which one or more biological functions are known and further containing information on each of the amino acid residues constituting each of the above amino acid sequences together with additional information on the score of importance of each amino acid residue in exhibiting the known biological functions; and a method of preparing an alignment which represents the homology among various sites each having a high score of importance in exhibiting the biological functions by estimating the proteins contained in the above database and polypeptides of which biological functions are unknown as yet with respect to the homology between them relative to the agreement between the constituent amino acids while taking into consideration the score of importance in exhibiting the biological functions.		

(57)要約

1 又は 2 以上の生物学的機能が知られている蛋白質のアミノ酸配列の情報を含み、該アミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加した情報を含むデータベース、及び該データベースに格納された蛋白質及び生物学的機能が未知のポリペプチドについて、それぞれの構成アミノ酸の一致に対して生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを考慮した相同性の評価値を求め、該重要度の高い部位の相同性を表わしたアラインメントを作成する方法。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SK	スロヴァキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TZ	タンザニア
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア 共和国	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TR	トルコ
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CI	コートジボワール	IL	イスラエル	MW	マラウイ	US	米国
CM	カメルーン	IN	インド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CU	キューバ	JP	日本	NO	ノルウェー	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェコ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク	KR	韓国	RO	ルーマニア		

明 細 書

蛋白質の機能推定法

技術分野

本発明はアミノ酸配列の情報を基にして、そのアミノ酸配列から構成される蛋白質の機能を推定する方法に関するものである。より詳しく言うと、アミノ酸配列の情報を基にして、そのアミノ酸配列から構成される蛋白質の酵素活性などの生物学的機能をコンピューターで利用可能な特定のデータベースを利用して効率的に推定する方法に関する。

背景技術

蛋白質は生体内で生命活動の維持に必須の物質であり、動物や植物に限らず微生物にもさまざまな蛋白質が存在しており、それぞれ固有の機能や役割を担っている。蛋白質をその機能から大別すると、化学反応を触媒する酵素、シグナル伝達物質の受け皿蛋白である受容体、それ自身がシグナルを伝えるシグナル伝達蛋白、及び特定の物質を結合して輸送する蛋白などに分類でき、それぞれが多様な機能によりさらに細分される。例えば、特定の基質の特定部位を還元する酵素や、蛋白質を加水分解する酵素などのように、酵素はそれぞれ固有の反応を触媒している。

蛋白質は主として 20 種のアミノ酸によって構成されており、50～1000 個程度のアミノ酸がさまざまな順序でペプチド結合により鎖状につながったポリペプチド分子である。蛋白質ごとにアミノ酸のつながる順序（アミノ酸配列または 1 次構造と呼ぶ）が異なっており、その結果、それぞれの蛋白質は異なる生理機能を発現できるようになる。すなわち、長いポリペプチド鎖が折り畳まれて立体構造が形成されると、標的分子（酵素基質分子や受容体基質分子など）の捕捉が可能になり、反応に関わる官能基が適切な位置関係に配置されるなど、目的の生物学

的作用の発現に適した場が提供される。それぞれのアミノ酸配列から固有の立体構造が決まり、その立体構造から生物学的機能が決定されることは容易に推定されるが、それらの関係の必然性は未だうまく説明されていない。

蛋白質の研究は、酵素活性を指標として蛋白質を単離・精製し、分子量や構成アミノ酸数、アミノ酸毎の数を決定した後にアミノ酸配列を決定するという古典的な方法に代わって、末端の 20 残基ほどを決定して対応する遺伝子配列を合成した後、蛋白質をコードする遺伝子を釣り上げて遺伝子側から全部のアミノ酸配列が決定する方法が利用されるようになった。これらの研究ではすでに機能がわかっている蛋白質を対象としてきたが、最近では全く逆の順序で研究が行われることも多い。その理由は、遺伝子配列の解析が極めて容易になったために、蛋白質を単離することなく、遺伝子の側からそれがコードするはずの蛋白質のアミノ酸配列を容易に決定できるようになったことにある。

その結果として、生物学的機能がわからないままアミノ酸配列だけが推定できる蛋白質が急増している。蛋白質の生物学的機能は立体構造に基づいて発現されるので、このような機能未知の蛋白質の立体構造を結晶解析や n m r 解析で解析して、その生物学的作用を推定する試みがなされている。しかしながら、このような構造解析には生化学的な使用量よりはるかに大量で、かつ高純度の試料が必要である。また、立体構造からただちに生物学的機能が推定されるわけではなく、仮に生物学的機能が推定されたとしてもそれが重要なものであるとは限らないので、研究の投資効率が極端に悪いという問題がある。したがって、蛋白質の立体構造を決定する前に、そのアミノ酸配列を有する蛋白質の生物学的作用を推定する方法の開発が切望されている。このような方法が開発されれば、蛋白質研究や遺伝子研究に多大な貢献があるものと期待される。

立体構造と生物学的機能は密接な関係をもっており、機能が既知の蛋白質の立体構造情報は機能メカニズムを説明するだけでなく、さまざまな目的に役に立つ。蛋白質またはリガンド分子との複合体の 3 次元座標はプロテインデータバンク (Brookhaven National Laboratories, U.S.A.) に収められており、世界中で利

用できるようになっている。現在、収録されている構造数は約 5000 程度であるが、生物種の違いやミュータントを除いた独立の蛋白質で考えると約 400~500 程度である。解析技術の普及と蛋白質の単離精製の技術の進歩などから、結晶解析される蛋白質の数は加速度的に増加しつつあるが、現状では立体構造が解明されないままの蛋白質が圧倒的に多い。

結晶解析や n m r 解析によらずに蛋白質の立体構造やリガンド分子との相互作用の様子を推定する方法としてモデリングを利用することができる。アミノ酸配列においてある程度相同性の高い類似蛋白質の立体構造が既に解析されている場合には、その構造を鋳型として利用してモデリングを行うことにより、アミノ酸残基の対応関係に基づいた立体構造を構築できる。この方法は試料を入手する必要がなく、一般にはコンピュータグラフィックス画面上で対話的に行える点で優れた方法である。例えば、一致していないアミノ酸については側鎖を置換することによって行われる。側鎖のコンフォメーションの問題や挿入または欠損アミノ酸の主鎖の問題を有しているものの、推定構造の信頼性はアミノ酸配列の相同性の高さによって決定され、結晶構造とほぼ同様の扱いが可能である。

アミノ酸の種類ができるだけ一致するように 2 種以上の蛋白質のアミノ酸配列間の対応関係をつける方法（アラインメント）は、モデリングの目的だけでなく、生物種間やファミリー間での類似性や相違点を調べる目的で頻繁に利用されている。アラインメントの手法では、概念的には一方の配列を他方に対して 1 残基ずつずらしながらアミノ酸の一致のスコアが最もよい対応位置を見つけることになるが、実際には、配列間の対応関係の可能性は無限にあるのできめ細かな配慮と繰り返し操作が必要になり、精度の高い結果を得るためには極めて煩雑な作業が必要になる。例えば、一方の配列に挿入や欠損がある場合も多いので単純に全配列でのアミノ酸の一致度をスコアにすることはできず、部分的に良く一致する部分配列を探すことが必要であり、所定の残基数単位（ウィンドウ）で一致のスコアを算出する必要もある。場合によっては、完全な一致ではなく性質の似たアミノ酸を相同としてスコアを求める必要もある。

一般に、相同性が低い場合にはアラインメントも一義的には決まらず曖昧さが残るという問題を有しているものの、機能が既知の蛋白質群からアミノ酸配列上の類似性の高い蛋白質を探し出すことができるので、アラインメントは現在のところアミノ酸配列しか手がかりのない蛋白質についてその機能を推定する最も簡便な方法である。このような理由から、アラインメントの煩雑な操作をコンピューターを用いて部分的に自動化する試みがなされている。例えば、アミノ酸配列のマッチング法として FASTA (Pearson, W. R. and Lipman, D. J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, pp. 2444-2448, 1988) と BLAST (Altschul, S. F. et al., J. Mol. Biol., 215, pp. 403-410, 1990) が知られている。これらの方法は、短い特定の配列が長い対象配列中に存在するか否かを高速に調べるのに適しているものの、長い配列同士を比較する場合や、相同性が低く断片的にしか一致していないような配列を検索対象とする場合には、類似性の判断や類似部分の抽出が著しく困難であり、相同性の判定精度が低い。従って、これらの方法はアラインメントや蛋白質の機能推定の目的には不十分であり、さらに精度に優れた高速な方法の開発が求められていた。

発明の開示

本発明の課題は、アミノ酸配列の情報を基にして、そのアミノ酸配列から構成される蛋白質の生物学的機能を推定する方法を提供することにある。さらに詳しくは、アミノ酸配列の情報のみが利用可能である場合に、生物学的機能がすでに知られている蛋白質のアミノ酸配列との相同性を特定のデータベースを利用してコンピューターにより効率的に検索し、該アミノ酸配列から構成される蛋白質の生物学的機能を正確かつ高速に検索する方法を提供することにある。

本発明者らは上記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、下記の特徴を有するデータベースを用いると、アミノ酸配列から蛋白質の機能を極めて高速かつ高精度に推定できることを見出した。

すなわち本発明は、1又は2以上の生物学的機能が知られている蛋白質のアミ

ノ酸配列の情報を含み、該アミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加した情報を含むデータベースを提供するものである。

このデータベースは、例えば、アミノ酸配列の相同性に基づいて生物学的機能が未知な蛋白質の機能を推定するために用いることができ、好ましい態様では、生物学的機能が知られている蛋白質のアミノ酸配列の情報として、蛋白質の3次元構造などの立体構造に関する情報が利用可能な蛋白質のアミノ酸配列を用いて、該アミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該蛋白質とリガンド分子との結合や生物学的機能の発現に関する重要度のスコアが付加されている。これらのデータベースは、一般的には、フロッピーディスク、CD-ROM、磁気テープ、光ディスクなどの種々の記憶用媒体に格納することが可能である。

別の観点からは、上記データベース中の蛋白質（本明細書において「鋳型蛋白質」と呼ぶ場合がある）と生物学的機能が未知のポリペプチド（本明細書において「対象蛋白質」と呼ぶ場合がある）について、それぞれの構成アミノ酸の一致に対して生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを考慮した相同性の評価値を求め、該重要度の高い部位の相同性を表わしたアラインメントを作成する方法が本発明により提供される。

この方法の好ましい態様では、生物学的機能の発現に関して重要度が高い連続した2以上のアミノ酸残基を含むグループ配列を用いて、上記データベース中の蛋白質と対象蛋白質について相同性の高い対応関係を検索する工程を含んでいる。また、他の好ましい態様では、データベース中の1の蛋白質と対象蛋白質について上記アラインメントから相同性の最終評価値を得る工程と、データベースに含まれる全蛋白質についての最終評価値から生物学的機能に関して対象蛋白質に最も類似した蛋白質を推定する工程を含んでいる。これらの方法では、蛋白質全体としての相同性は低くても、生物学的機能に関係した部位の相同性が高い蛋白質を効率よく抽出することができ、対象蛋白質の機能を高速かつ高精度に推定できるという特徴を有している。

図面の簡単な説明

第1図は、生物学的機能と立体構造がわかっている4種類の蛋白質のアミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について、それぞれの生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加したアミノ酸配列の情報を示す図である。図中の記号は、それぞれ、大腸菌由来のジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR-EC)、ウシ由来のトリプシン (TRYP)、ウシ由来のリボヌクレアーゼA (RNAS)、クジラ由来のミオグロビン (MYGL) を示し、アミノ酸残基は1文字表記で示した。

第2図は、対象蛋白質 (DHFR-HM) と、該対象蛋白質に対して最も高い評価値 S S S を与える鋳型蛋白質として抽出された DHFR-EC とのアラインメントを示した図である。図中の記号は、それぞれ、ヒト由来のジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR-HM) 及び大腸菌由来のジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR-EC) を示し、1 段目は DHFR-HM のアミノ酸番号、2 段目は DHFR-HM のアミノ酸配列、3 段目は DHFR-EC のアミノ酸配列の部分配列、4 段目は DHFR-EC のアミノ酸配列の部分配列のアミノ酸番号を示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明のデータベースは、1 又は 2 以上の生物学的機能が知られている蛋白質のアミノ酸配列の情報を含み、該アミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加した情報を含むことを特徴としている。格納の対象となる蛋白質は、例えば、酵素作用や受容体作用などの 1 又は 2 以上の生物学的機能が知られており、全アミノ酸配列が知られているものであればいかなるものでもよいが、好ましくは、その蛋白質の立体構造やリガンド結合部位の立体構造がすでに解明若しくは推定されており、または容易に推定可能なものであることが好ましい。データベースには立体構造が明らかにされた蛋白質に関する情報になるべく多く含まれていることが望ましい。例えば、蛋白質またはリガンド分子との複合体の 3 次元座標はプロテインデータバンク

(Brookhaven National Laboratories, U.S.A.) に収められているが、約 5000 程度(生物種の違いやミュータントを除いた独立の蛋白質で考えると約 400~500 程度)の蛋白質についての情報が利用可能であり、本発明のデータベースの作成に好適に用いることができる。

本発明のデータベースでは、生物学的機能が知られた蛋白質を構成するアミノ酸配列を基にして、各々のアミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加することを特徴としている。それぞれの蛋白質について格納する情報としては、例えば、蛋白質名、生物種、臓器・器官、サブタイプ、機能の種類、機能の細分類(例えば、酵素については蛋白分解作用や還元作用などの酵素作用)、酵素の分類番号(EC 番号)、酵素反応や生物学的機能に関係するリガンド分子(酵素基質、受容体基質、補酵素、金属イオンなど)、立体構造の由来(例えば、X線結晶解析、nmr 解析、同様な生物学的機能を有する類似蛋白質の情報に基づくモデリングによるものなど)、主たる引用文献名、他のデータベースの参照番号、対象部位リガンド、及び全アミノ酸配列などを挙げることができるが、これらに限定されることはなく、適宜の情報を追加又は削除してもよい。

本発明のデータベースは、上記の情報に加えて、該アミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加した情報を含んでいる。重要度のスコアは、例えば、重要度が全くないものについてはゼロ、重要度が極めて高いものについては 10 などの数字やその他の記号を与えることにより行われるが、好ましくは、重要度に関連する 2 以上要素を勘案しながら算出するのが一般的である。本発明のデータベースには、さらに、生物学的機能の発現に寄与がある(スコアがゼロではない)連続したアミノ酸残基配列(1~n)の有無、スコアづけの方式、スコアの合計、蛋白質間でスコアの合計などを規格化のためのスケール因子などの情報を付加することができるが、付加すべき情報はこれらに限定されることはなく、適宜の情報を追加又は削除してもさしつかえない。なお、一個の蛋白質に複数の生物学的機能や複数のリガンド分

子が知られている場合には、それぞれについての情報を格納しておくことが好ましい。

以下、蛋白質のアミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを与える具体的な手法を説明するが、これらの説明は単に例示のためにのみ示されたものであり、いかなる意味においても限定的に解釈してはならない。また、本発明のデータベースはこれらの手段によって製造されたものに限定されることはない。なお、以下の説明においては、重要度のスコアを数値で表わす例について説明しており、重要度が全くないものについてはゼロ、重要度が高くなるにつれて大きな数値を与えるようにしているが、スコア付けの方法がこのような方法に限定されないことも理解すべきである。

(a) 低分子量のリガンド分子を含む蛋白質複合体の結晶解析がなされている場合：

プロテインデータバンクに収納された蛋白質であって、酵素基質、受容体基質、または阻害剤などの低分子量のリガンド分子との複合体の3次元構造が解析されている場合には、リガンド分子からの各アミノ酸残基の距離を求めて、各アミノ酸残基に距離に応じた重要度のスコアを与えることができる。低分子量のリガンド分子としては、例えば、薬理学的に活性な有機化合物、酵素基質、金属イオンなど、いかなるものであってもよい。例えば、リガンド分子のいずれかの原子（例えば、リガンドとなるCa原子やリガンド分子中の側鎖の1原子など）から10Å以内にあるアミノ酸残基には1、8Å以内なら2、6Å以内なら4、10Åより大きい場合には0などのスコアを与えることが可能である。

(b) 蛋白質単独で結晶解析がなされている場合：

リガンド分子を含まずに結晶解析されている蛋白質についても、さまざまな実験から生物学的機能（酵素活性など）に関係する構造領域が推定される場合には、その近傍のアミノ酸残基に対して上記(a)で行ったような距離に応じた数値を与えることが可能である。生物学的機能と立体構造との対応がついていない場合においても、生物学的機能が明確である場合には、その蛋白質の立体構造をコンピ

ュータグラフィックス画面上に描いて回転させながら顕著な内孔を探ることによって、生物学的機能に関係するアミノ酸残基を抽出することができる。

(c) 構造保存領域：

同じ生物学的機能を有する蛋白質について、アミノ酸配列の異なるサブタイプや異生物種の蛋白質など2種以上の立体構造の解析結果を利用できる場合には、それらの構造の重ね合わせを行うことにより、立体構造的に保存された領域を抽出することができ、それらの領域に含まれるアミノ酸残基に高い数値を与えることができる。

(d) モデリング：

蛋白質の立体構造が解析されていない場合、実質的に同一の生物学的作用を有することが知られている類縁蛋白質の立体構造を基にして構築したモデリング構造に基づいて、重要度のスコアをつけることが可能である。例えば、受容体サブタイプやアイソザイム、同じファミリーに属する蛋白質、異生物種の同一機能の蛋白質であってアミノ酸配列の相同性が高い場合にはモデリング構造の信頼性が高いことが知られている。重要度のスコアの与え方は、例えば、上記の各手法と同様に行えばよい。

(e) 生化学実験や遺伝子実験：

例えば生化学的な実験などから生物学的機能の発現に重要であることが推定されるアミノ酸残基や、遺伝子的なアミノ酸の変換の実験（ポイントミューテーションなど）から酵素作用などの生物学的機能の発現に必須であると推定されるアミノ酸残基については、高い重要度を与えることができる。例えば、酵素反応においては、リガンド分子との結合などの観点での評価に加えて、触媒的な役割を果たすアミノ酸残基に大きな数値を与えることが可能である。

(f) 高分子リガンド分子である蛋白質：

一般的に、低分子量のリガンド分子との結合が機能に必須である蛋白質はそのリガンド分子と安定に結合するための内孔を有している。一方、例えば蛋白質などの高分子量のリガンド分子が結合する蛋白質では、顕著な内孔をもたずに受容体

蛋白質と分子表面で結合することが多く、受容体蛋白質も顕著な内孔を有しないことがある。例えば、サイトカインのようにそれ自身が高分子リガンドとなる場合には、モノクローナル抗体を用いて推定されるエピトープ領域のアミノ酸残基に大きな数値を与えてもよい。

以上に例示したような手法の1種又は2種以上の組み合わせを用い、さらに必要に応じて適宜の手法を追加することによって、生物学的機能が知られている蛋白質のアミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について、該生物学的機能の発現に関する重要度のスコア付けを行い、重要度のスコアが付加されたアミノ酸配列の情報を作成することができる。なお、アミノ酸残基と生物学的機能の発現との関係については、例えば上記(a)の手法などによりその関係が十分に実証されているものに加えて、その関係がある程度推定可能なものなど、種々の基準をスコア付けに利用できることは言うまでもない。

例えば、結晶構造が既知の蛋白質や、生物学的機能の面から類似の立体構造を有することが推定される蛋白質など、なるべく多くの蛋白質について重要度のスコアが付加されたアミノ酸配列の情報を収集し、コンピューターが利用可能な所定の形式で格納して本発明のデータベースを構築することができる。この際、それぞれの蛋白質の情報の量と質に応じて、それぞれの蛋白質について適宜の異なる基準によりスコアを付加してもよい。もっとも、データベース中にスコアづけの方式と蛋白質間の合計スコアの規格化のためのスケール因子を加えることが必要になる場合もある。なお、上記のような情報の入力、一定の方式に従ってマニュアルで行うことも可能であるが、一般的には、コンピュータグラフィックス画面上で所定のプログラムを用いて行うのが効率的である。

本発明の方法では、上記データベースを用いて、データベース中に情報が格納された鋳型蛋白質と生物学的機能が未知の対象蛋白質について、アミノ酸残基の重要度のスコアから計算した相同性の評価値が最大になるようにアラインメントを作成し、ついで、データベースに含まれる2以上の鋳型蛋白質、好ましくは全部の鋳型蛋白質について同様なアラインメントを作成した後、鋳型蛋白質間で相同

性の評価値の比較を行い、評価値が最も高い鋳型蛋白質を選出することができる。このようにして選出された鋳型蛋白質は、対象蛋白質との立体構造の類似度が高く、実質的に同一の生物学的機能を有する蛋白質であると推定することが可能である。

上記の方法は、一般的には、本発明の上記データベース中の鋳型蛋白質に関する情報を1つ1つ取り出して、対象蛋白質のアミノ酸配列に対してアラインメント作業をすることにより行われる。対象蛋白質のアミノ酸配列の情報が直接利用できる場合にはその情報を入力して用いればよく、対象蛋白質をコードする遺伝子配列の情報のみが利用可能である場合には、その核酸配列の情報から対象蛋白質のアミノ酸配列の情報を翻訳して用いる必要がある。

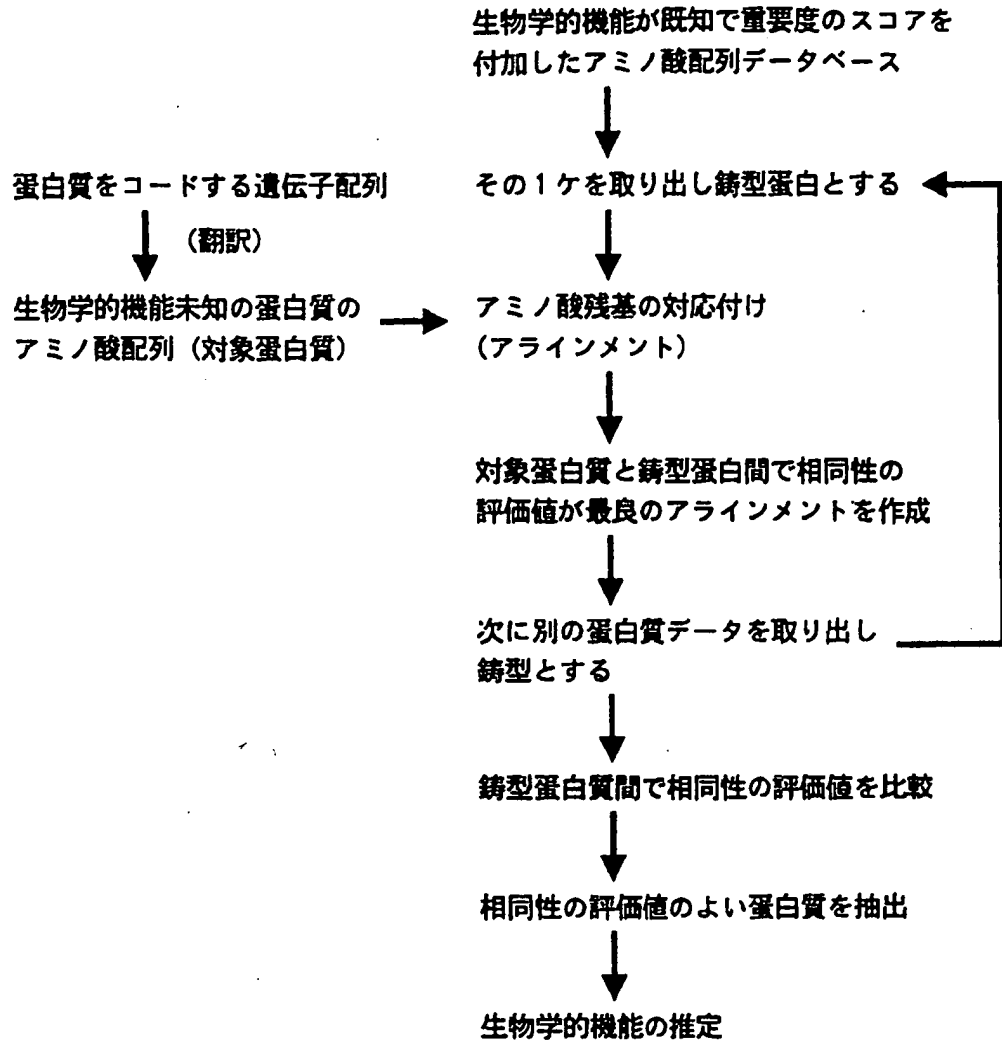
本発明の好ましい方法の一例として、鋳型蛋白質のアミノ酸配列において生物学的機能への寄与がある連続した2以上のアミノ酸残基（スコアがゼロでない連続したアミノ酸残基）を含むグループ配列を用いて、鋳型蛋白質と対象蛋白質について相同性の高い対応関係を検索する方法を挙げることができる。もっとも、アラインメント作業はこの方法に限定されることはなく、当業者に利用可能ないかなる方法で行ってもよい。

グループ配列を利用する上記の方法では、グループ配列を対象蛋白質のアミノ酸配列に対して1残基ずつずらしながら、グループ毎に相同性の評価値を求めることができ、その後、必要に応じてグループ配列の繋がる順序や長さなどの因子を考慮しつつ、全グループ配列の合計評価値が最良になるように、対象蛋白質のアミノ酸配列に対する各グループ配列の対応関係を決定することができる。この手順をデータベース中のすべての鋳型蛋白質について行い、高い総スコアを有する1又は2個以上の蛋白質を抽出することができる。対象蛋白質は、このようにして抽出された鋳型蛋白質と実質的に同一の生物学的機能を有している可能性が高い。

相同性の評価値としては、例えば、鋳型蛋白質中のグループ配列と対象蛋白質配列中の対応アミノ酸残基が一致した場合には、一致したアミノ酸残基に重要度の

スコアを転記して単に合計するのが簡単である。もっとも、重要度のスコアの高いアミノ酸の一致を重視したアラインメントを作成するためには、重要度の各スコアをさらに1又は2以上の関数で処理して用いてもよい。対象蛋白質とデータベース中に含まれる全鋳型蛋白質のアラインメントを作成するにあたっては、異なるアラインメント間で全相同性評価値を比較すればよいが、一般的には、大きさの異なる鋳型蛋白質間においても重要度のスコアの合計値によって対象蛋白質との相同性の良し悪しを比較できるように、重要度のスコアの規格化のためのスケール因子を鋳型蛋白質毎に算出してデータベースに格納しておくことが望ましい。対象蛋白質と各鋳型蛋白質とのアラインメント作業が完了して相同性のスコアが計算された段階で、各鋳型蛋白質の相同性スコアに対応のスケール因子を掛け合わせて最終スコアを求め、鋳型蛋白質間での相同性の優劣を決定することができる。。

また、異なる生物種に存在する同種蛋白質において、例えば、側鎖の長さが炭素原子1個分違うだけでカルボキシル基を共通に有するアスパラギン酸とグルタミン酸とが、アミノ酸配列中の同じような位置で同一の役割を果たしていることがある。このような場合には、アミノ酸残基の一致を判定するに当たり、これらのアミノ酸残基を一致しているとみなすのが妥当である。また、ロイシンとイソロイシン、バリンなどのアミノ酸残基は、形状やサイズ（嵩高さ）では異なるものの、疎水性の観点からは類似の性質を有している。従って、アミノ酸配列の相同性を数値化する際には、このような類似アミノ酸残基の存在が反映されるように、アミノ酸残基の類似度を段階化した対応表を用いることが望ましい。このようなアミノ酸残基の類似度としてはいかなるものを用いてもよいが、類似度を記載した対応表として、例えば、PAM250 (Dayhoff, M. O., et al., Atlas of Protein Sequence and Structure, Dayhoff, M. O. Ed., Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-352, NBRF, Washington, 1978) や BLOSUM (Henikoff, S. and Henikoff, J. G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, pp. 10915-10919, 1992) などが利用可能である。



本発明の方法の一例を概念図として上記に示した。また、本発明の方法は、例えば下記の工程を含む方法であつてもよい。もっとも、本発明の方法はこれらの方法に限定されることはなく、これらの方法において採用された工程に加えて、必要に応じて1又は2以上の適宜の工程を追加することができ、所望であれば1又は2以上の工程を省略できる場合があることを理解すべきである。このような修飾ないし改変された方法がすべて本発明の範囲に包含されることは言うまでもない。

(1) 対象蛋白質のアミノ酸配列を呼び出す工程；

- (2) 上記データベースから鋳型配列を1個取り出す工程；
- (3) 鋳型蛋白質のアミノ酸配列から重要度のスコアが一定値以上の部分配列 a, b, c, d, e, ---, n, ---- を例えばN末端から順に取り出す工程（それぞれの部分配列の長さを $l_a, l_b, l_c, l_d, l_e, \dots, l_n, \dots$ とする）；
- (4) 部分配列 a を対象配列の1番目に位置付け、1アミノ酸残基ずつずらしながら相同性の評価値 $S(a)_i$ を算出する工程（相同性の評価値として一致したアミノ酸残基の重要度のスコアを加える）；
- (5) 部分配列 b を対象配列の $(1+l_a)$ 番目に位置づけ、1アミノ酸残基ずつずらしながら、相同性の評価値 $S(b)_i$ を算出する工程（相同性の評価値として一致したアミノ酸残基の重要度のスコアを加える）；
- (6) 同様に c, d, e, ---, n, ---- について相同性の評価値 $S(n)_i$ を算出する工程；
- (7) a, b, c, d, e, ---, n, ---- の順序とそれぞれのアミノ酸残基数を考慮しながら、全部分配列の相同性 $S S$ がもっとも大きくなるように部分配列の対応位置を決定する工程；
- (8) $S S$ にスケール因子をかけて $S S S$ とする工程；
- (9) データベース中の全鋳型蛋白質について上記の手順を行い $S S S$ を求める工程；及び
- (10) $S S S$ の高い蛋白質を抽出する工程

実施例

本発明を下記の実施例により更に具体的に説明するが、本発明の範囲は下記の実施例に限定されることはない。

例1：データベースの作成

生物学的機能と立体構造がわかっている大腸菌由来のジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR-EC)、ウシ由来のトリプシン (TRYP)、ウシ由来のリボヌクレアーゼ A

(RNAS)、クジラ由来のミオグロビン (MYGL) の4種類の蛋白質からなるデータベースを作成した。それぞれの結晶構造はプロテインデータバンク (Brookhaven National Laboratories, U.S.A.) から入手した。アミノ酸残基のいずれかの構成原子が、蛋白質に結合しているリガンド分子 (阻害剤又は補酵素) のいずれかの原子から4 Å以内にある場合には2、4~10 Åの範囲内である場合には1、その他の場合には0を与えて、それぞれのアミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基についてそれぞれの生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加したアミノ酸配列の情報を作成した。図1に各蛋白質のアミノ酸配列とスコア付けの結果を示す。

例2：生物学的機能の推定

ヒト由来のジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR-HM) を対象蛋白質とし、上記データベースを用いて、該対象蛋白質の生物学的機能を本発明の方法により推定した。DHFR-HM は生物学的機能及び立体構造が知られている蛋白質であるが、生物学的機能及び立体構造を未知なものとして解析を行った。データベース中の鋳型蛋白質のそれぞれのアミノ酸配列について、スコア値が1以上の部分配列を取り出し、対象蛋白質のアミノ酸配列に対して1残基ずつずらしながら相同性の評価値Sを算出し、評価値Sの最も高いアラインメント位置を決定した。

評価値Sの算出には、アミノ酸の類似度に関する対応表 BLOSUM62 を用い、部分配列と対象蛋白質のアミノ酸配列とのアミノ酸残基の組に応じた類似度の評価値を表から求めて、部分配列の各残基のスコアと類似度の評価値との積を部分配列の長さにわたって積算する方法を採用した。全部分配列の相同性SSは、部分配列ごとに評価値Sの最大値を求めて、それらの和として算出した。相同性決定に用いた配列の長さの違いを補正するために、スケール因子として全部分配列のスコアの総和の逆数を用いて、スケール因子をSSの値に乗じて最終的な評価値SSSを算出した。この結果、表1に示すように、DHFR-EC, TRYP, RNAS, MYGLを鋳型蛋白質として用いた場合、DHFR-EC が最も高い評価値SSSを与え、対象蛋

白質(DHFR-HM)が DHFR-EC と類似の蛋白質であり、ジヒドロ葉酸還元酵素の活性を有するものと推定された。図2には DHFR-HM と DHFR-EC のアラインメントを示した。

表 2

蛋白質	評価値 SSS
DHFR-EC	1.82
TRYP	1.09
RNAS	1.22
MYGL	0.61

産業上の利用可能性

本発明のデータベースは、アミノ酸配列の情報を基にして、そのアミノ酸配列から構成される蛋白質の生物学的機能を推定するために有用であり、本発明の方法は、このデータベースを利用してアミノ酸配列から構成される蛋白質の生物学的機能を正確かつ高速に検索することができるので有用である。

請 求 の 範 囲

1. 1又は2以上の生物学的機能が知られている蛋白質のアミノ酸配列の情報を含み、該アミノ酸配列を構成する各アミノ酸残基について該生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを付加した情報を含むデータベース。
2. アミノ酸配列の相同性に基づいて生物学的機能が未知な蛋白質の機能を推定するために用いる請求の範囲第1項に記載のデータベース。
3. 生物学的機能が知られている蛋白質のアミノ酸配列の情報として、蛋白質の立体構造に関する情報が利用可能な蛋白質のアミノ酸配列を用いて作成された請求の範囲第1項又は第2項に記載のデータベース。
4. 記憶用媒体に格納された請求の範囲第1項ないし第3項のいずれか1項に記載のデータベース。
5. 請求の範囲第1項ないし第3項のいずれか1項に記載のデータベースに格納された蛋白質及び生物学的機能が未知のポリペプチドについて、それぞれの構成アミノ酸の一致に対して生物学的機能の発現に関する重要度のスコアを考慮した相同性の評価値を求め、該重要度の高い部位の相同性を表わしたアラインメントを作成する方法。
6. 生物学的機能の発現に関して重要度が高い連続した2以上のアミノ酸残基を含むグループ配列を用いて、上記データベース中の蛋白質及び対象蛋白質について相同性の高い対応関係を検索する工程を含む、請求の範囲第5項に記載の方法。
7. データベース中の1の蛋白質と対象蛋白質について上記アラインメントから相同性の最終評価値を得る工程を含む、請求の範囲第5項又は第6項に記載の方法。
8. データベースに含まれる全蛋白質についての最終評価値から生物学的機能に関して対象蛋白質に最も類似した蛋白質を推定する工程を含む、請求の範囲第7項に記載の方法。

DHFR-EC 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
 MISLIAALAVDRVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLDKPVIMGRHTWESIGRPLPGRKNIILSSQPGTDDRVTWVKSVDIAACGDVPEIMVIGGRVY 1122211 11122112211111 11111211221212112 112111
 EQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDWESVFSEFHDADAQNSHSYCFKILERR 111211 110 120 130 140 150 159
TRYP 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
 IVGGYTCGANTVPYQVSLNSGYHFCGSLINSQWVVSAAHCYKSGIQVRLGEDNINVVEGNEQFISASKSIVHPSYNSNTLNDIMLIKLSAASLSNRV 11111 11111
 ASISLPTSCASAGTQCLISGWGNTKSSGTSYPDVLKCLKAPILSDSSCKSAYPGQITSNMFCAGYLEGGKDSQCGDSGGPVVCSGKLQGIIVSWGSGCAQK 111111111 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200
 NKPGVYTKVCNVVSWIKQTIASN 122221 210 220
RNAS 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
 KETAAAKFERQHMDSSSTAASSSNYCQMMKSRNLTCKDRCKPVNTFVHESLADVQAVCSQKNVACKNGQTNCYQSYSTMSITDCRETGSSKYPNCAYKIT 11111111221 2122211 111121
 QANKHIIIVACEGNPYVPVHFDASV 11111111 110 120 124
MYGL 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
 VLSEGEWQLVLHVNAKVEADVAGHGQDILIRLFKSHPETLEKFDREKHLKTEAEMKASEDLKKKHGVTVLTAIGAILKKKGHHEAELKPLAQSHATKHKIP 111111 11121122121211 11111211221 12121
 IKYLEFISEAIIHVLHSRHPGDFGADAQAGAMNKALELFRKDI AAKYKELGYQG 110 120 130 140 150
 11222121111 1111211111111

第1図

DHFR-HM	10	20	30	40	50	60	70
DHFR-EC	3	9	24	38	40	57	
	VGSLNCIVAVSQNMGIGKNGDLPWPLRNEFRFYQFRMTTSSVEGKQNLVIMGKKTWFSIPEKNRPLKGR						
	SLIAALA		LPADLAWFKRNTLDK		VIMGRHTWESIGRPLPGR		
DHFR-HM	80	90	100	110	120	130	140
DHFR-EC							
	INLVLSRELKEPPQGAHFLSRSLDDALKLTEQPELANKVDMMVWIVGGSSVYKEAMNHPGHLKLFVTRIMQ						
					MVIGGG	LYLTHI	
					92	97	110 115
DHFR-HM	150	160	170	180	186		
DHFR-EC							
	DFESDTFFPEIDLEKYKLLPEYPGVLSDVQEEKGIKYKFEVYEKND						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/02302

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ G06F17/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ G06F17/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1998
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1998 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1998

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST File on Science and Technology (DNA, Tanpakushitsu, Aminosan, Heichi)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Katsuki, Kanahisa, "Development of Techniques for Improving the Efficiency of Analyzing Gene Functions (in Japanese)" Report on the Results of Researches for Developing Common Fundamental Technology for Supporting Cancer Research (Period II: fiscal 1987 to fiscal 1989) September 1991 (09. 91), p.49-57, Particularly refer to p.50	5-8
A	Nishioka, Suyama, "Research on the characterization of Amino Acid Sequences on the Basis of Chemical Structures of Ligands (in Japanese)" Report on the Results of Research conducted in fiscal 1993 for Researches concerning Processing of Ample Knowledge Information March 1994 (03. 94), p.56-60	5-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
July 7, 1998 (07. 07. 98)

Date of mailing of the international search report
July 21, 1998 (21. 07. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/02302

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-4

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The subject matters of claims 1 to 4 are considered mere representations of information characterized solely by the contents of information and thus relate to subject matters which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Section 42(5) of the Regulations

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/02302

Continuation of Box No. I of continuation of first sheet (1)

under the Law Concerning International Applications, etc. Pursuant to the Patent Cooperation Treaty, to search.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 98/02302

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ G 0 6 F 1 7 / 3 0

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ G 0 6 F 1 7 / 3 0

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-1998年

日本国実用新案登録公報 1996-1998年

日本国登録実用新案公報 1994-1998年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICST科学技術文献ファイル (DNA, 蛋白質, アミノ酸, 並置)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	香月, 金久 著「遺伝子の機能解析の効率化技術の開発」, がん研究を支える共通基盤技術の開発に関する研究(第II期 昭和62年度~平成元年度)成果報告書, 9月. 1991(09. 91), p. 49-57, 特に, p. 50参照	5-8
A	西岡, 須山 著「リガンドの化学構造によるアミノ酸配列の特徴づけに関する研究」, ゲノム解析に伴う大量知識情報処理の研究 平成5年度研究成果報告書, 3月. 1994(03. 94), p. 56-60	5-8

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 07. 98

国際調査報告の発送日

21.07.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

高 瀬 勉

5 L

9069

電話番号 03-3581-1101 内線 3564

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 1-4 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲 1-4 は専らその情報の内容に特徴を有する情報の単なる提示と認められるから、特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律施行規則第 42 条（5）に定められた国際調査を要しない対象である。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。